

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①① N° de publication :

2 791 260

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national :

99 03840

⑤① Int Cl<sup>7</sup> : A 61 K 7/48

⑫

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 26.03.99.

③① Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la  
demande : 29.09.00 Bulletin 00/39.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule*

⑥① Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : *PARFUMS CHRISTIAN DIOR Société  
anonyme — FR.*

⑦② Inventeur(s) : DUMAS MARC et BONTE FREDERIC.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) : CABINET BEAU DE LOMENIE.

⑤④ COMPOSITIONS COSMETIQUES OU DERMATOLOGIQUES CONTENANT AU MOINS UNE SUBSTANCE  
DESTINEE A AUGMENTER LA FONCTIONNALITE ET/OU L'EXPRESSION DES RECEPTEURS  
MEMBRANAIRES CD44 DES CELLULES DE LA PEAU.

⑤⑦ L'invention concerne des utilisations dans le domaine  
cosmétique ou pharmaceutique d'au moins un agent actif  
destiné à augmenter l'expression et/ou la fonctionnalité des  
récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau.

Ces agents actifs sont, de préférence, des acides alpha-  
hydroxylés ou des alpha-céto-acides ou des sels et des es-  
ters de ces acides ou le chlorure de manganèse.

Les compositions cosmétiques ou pharmaceutiques de  
l'invention sont destinées à améliorer la fixation de l'acide  
hyaluronique et/ou du collagène, en particulier du collagène  
I ou du collagène IV, et/ou et/ou de la fibronectine à la sur-  
face des cellules de la peau et permettent notamment  
d'améliorer l'hydratation du derme et de l'épiderme, de pré-  
venir ou traiter les phénomènes de vieillissement de la peau  
ainsi que les phénomènes inflammatoires.

FR 2 791 260 - A1



L'invention concerne des compositions cosmétiques ou dermatologiques  
5 contenant au moins une substance destinée à augmenter la fonctionnalité et/ou  
l'expression des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau.

L'acide hyaluronique est présent en quantité abondante dans l'épiderme  
humain où il se trouve localisé dans les espaces intercellulaires situés entre les  
kératinocytes.

10 L'acide hyaluronique est également présent en quantité abondante dans le  
derme humain où il se trouve localisé dans les espaces intercellulaires situés entre  
les fibroblastes.

La glycoprotéine appelée CD44 est présente dans l'épiderme à la surface  
des kératinocytes et sa fonction est de permettre la liaison de l'acide hyaluronique  
15 à la surface des kératinocytes.

La glycoprotéine appelée CD44 est également présente dans le derme à la  
surface des fibroblastes et sa fonction est de permettre la fixation de l'acide  
hyaluronique, des collagènes; notamment des collagènes I et IV, ainsi que de la  
fibronectine à la surface de ces cellules.

20 L'acide hyaluronique est le capteur hydrique naturel de l'épiderme et du  
derme puisqu'il est capable de retenir jusqu'à mille fois son volume en eau. On  
voit donc bien ici l'importance pour la cellule de posséder des récepteurs capables  
de fixer cet hydrocapteur afin de retenir l'eau à son contact et permettre son  
hydratation.

25 Il est connu, par ailleurs, que les dépôts d'acide hyaluronique coïncident  
avec une activité cellulaire de renouvellement et de migration intense dans  
différents tissus et organes en développement. Dans l'épiderme, il est localisé dans  
les parties vivantes profondes, au niveau basal et suprabasal, là où le  
renouvellement cellulaire et la migration sont les plus importants. Cependant, aux  
30 endroits où l'adhérence cellulaire au constituant matriciel est essentielle comme au  
niveau de l'interface entre les cellules basales épidermiques et la jonction dermo-  
épidermique, le CD44 est absent.

Un autre élément important pour la physiologie de l'épiderme et du derme  
est que, en situation inflammatoire, les régions envahies par les cellules

inflammatoires, lymphocytes et neutrophiles, présentent une disparition en CD44 et en acide hyaluronique. Or cette disparition est nécessaire à une adhérence forte des cellules inflammatoires et à leur invasion et leur installation dans les tissus (CD44 Substituted with Heparan Sulfate an Endo- $\beta$ -galactosidase-Sensitive Oligosaccharides : A Major Proteoglycan in Adult Human Epidermis. J. Invest. Dermatol. ; 1997 ; 109 ; pp 213-218).

Il est par ailleurs connu que l'acide hyaluronique permet d'établir de véritables ponts entre deux récepteurs CD44 portés par des cellules adjacentes. Ceci est étayé par le fait que, lorsque l'on traite une peau maintenue en survie par de la hyaluronidase qui dégrade l'acide hyaluronique, on ouvre les espaces intercellulaires et on provoque une acanthose, c'est-à-dire une hyperplasie épidermique. Une telle acanthose avec disparition de CD44 est aussi observée au niveau des sites épidermiques envahis par les leucocytes.

Toutes ces données prouvent que le CD44 a un rôle important dans le développement, la maintenance et la fonctionnalité de l'épiderme.

Les inventeurs ont, de plus, constaté une diminution des liaisons entre les récepteurs CD44 et l'acide hyaluronique avec l'âge. Ce phénomène est à l'origine de l'augmentation de la sécheresse de l'épiderme avec l'âge, ainsi que de la diminution du renouvellement des cellules de l'épiderme. En effet avec l'âge, l'épiderme s'atrophie et se renouvelle moins bien.

De toutes ces connaissances, il ressort que tout moyen permettant d'augmenter la fonctionnalité des récepteurs transmembranaires CD44 et d'améliorer ainsi la fixation de l'acide hyaluronique à la surface de la cellule, constitue un moyen intéressant pour améliorer l'hydratation au niveau cellulaire de l'épiderme et du derme.

Par ailleurs, tout moyen permettant d'intensifier le réseau d'interconnexion entre les cellules de l'épiderme par fixation d'acide hyaluronique sur des récepteurs CD44 de deux cellules adjacentes constitue un moyen particulièrement efficace de limiter la migration des cellules inflammatoires telles que les lymphocytes et les neutrophiles vers les cellules de l'épiderme. Une telle action aura pour effet de prévenir ou traiter les phénomènes d'inflammation. Ainsi, l'invention trouve un intérêt particulier pour le soin des peaux sensibles et réactives.

Enfin, il ressort que tout moyen permettant d'augmenter l'expression et/ou la fonctionnalité des récepteurs transmembranaires CD44 et d'améliorer ainsi la

fixation de l'acide hyaluronique à la surface de la cellule, constitue un moyen intéressant pour lutter contre ou, au moins, ralentir et/ou retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, tels que notamment les rides, la sécheresse cutanée, l'altération du teint, l'altération des propriétés biomécaniques de la peau tels que le relâchement, la perte de tonicité, de fermeté et d'élasticité de la peau.

La présente invention résulte de la mise en évidence après une étude systématique de ce que certaines substances agissent de façon efficace sur la fonctionnalité et sur l'expression des récepteurs CD44 des cellules de l'épiderme. Cette découverte a conduit les inventeurs de la présente invention à introduire les substances dont l'activité avait ainsi été mise en évidence dans des compositions cosmétiques ou dermatologiques, notamment destinées au maintien ou à la restauration de l'hydratation au niveau cellulaire de l'épiderme, à ralentir et/ou retarder l'apparition des signes du vieillissement cutané, et au traitement ou à la prévention des phénomènes d'inflammations, notamment au soin des peaux sensibles et réactives.

Ainsi donc, l'invention résulte, pour l'essentiel, de la découverte de ce qu'il était possible d'agir par l'intermédiaire d'agents actifs cosmétiques ou pharmaceutiques à usage topique sur l'expression et/ou la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau, ce qui a permis d'envisager l'utilisation de ces agents actifs dans des procédés de traitement cosmétique ou thérapeutique à usage topique de la peau.

L'invention concerne donc des utilisations aussi bien dans le domaine cosmétique que pharmaceutique mettant en oeuvre cette découverte. L'homme du métier choisira bien sûr, suivant qu'il s'agit d'applications cosmétiques ou pharmaceutiques, des actifs acceptables dans le domaine visé.

Ainsi, selon l'une de ses caractéristiques essentielles, l'invention concerne l'utilisation, dans une composition cosmétique, d'au moins un agent actif destiné à augmenter l'expression et/ou améliorer la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau.

Selon une première variante, l'utilisation de cet agent actif permet d'améliorer la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau en ce qu'ils fixent à la surface desdites cellules, l'acide hyaluronique et/ou le collagène, en particulier le collagène I et/ou le collagène IV, et/ou la fibronectine.

Selon une autre variante, ledit actif augmente l'expression et/ou améliore la fonctionnalité des récepteurs CD44 des kératinocytes et/ou des fibroblastes en ce qu'ils fixent l'acide hyaluronique à leur surface.

Il a été constaté que cette action sur les récepteurs membranaires CD44  
5 était ressentie aussi bien sur les récepteurs CD44 des kératinocytes que des fibroblastes.

Ainsi, selon une autre variante, ledit agent actif augmente l'expression et/ou améliore la fonctionnalité des récepteurs CD44 des fibroblastes en ce qu'ils fixent à la surface desdits fibroblastes, le collagène, en particulier le collagène I  
10 et/ou le collagène IV, et/ou la fibronectine.

Comme exposé précédemment, l'invention résulte d'une étude systématique d'un grand nombre d'agents actifs. Cette étude a permis de montrer, en particulier, que les agents actifs les plus efficaces sur l'expression et/ou la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau  
15 s'avéraient être :

- les acides alpha-hydroxylés, que l'on choisira bien entendu, dans le cadre de l'invention, parmi ceux qui sont cosmétiquement acceptables, leurs sels et leurs esters. A titre d'acides alpha-hydroxylés, on choisira ceux en C<sub>2</sub> à C<sub>12</sub>

- les alpha-céto-acides cosmétiquement acceptable, plus précisément ceux  
20 en C<sub>3</sub> à C<sub>12</sub>.

Un autre produit particulièrement efficace s'avère être le chlorure de manganèse.

Lorsque l'on utilise un acide alpha -hydroxylé ou un de ses sels ou esters, on choisit de préférence cet acide dans le groupe constitué par l'acide lactique,  
25 l'acide glycolique, l'acide gentisique, l'acide salicylique, l'acide gluconique et l'acide heptonique.

Lorsque l'on utilise un alpha-céto-acide, on choisit de préférence l'acide pyruvique.

Les esters d'acide alpha -hydroxylé ou d'alpha-céto-acide sont  
30 avantageusement choisis parmi leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>.

Les sels d'acides alpha-hydroxylés ou d'alpha-céto-acides sont avantageusement choisis parmi les sels de sodium, de calcium, de magnésium, de zinc et de manganèse.

Enfin, comme cela ressort des exemples, il est apparu que le gluconate de calcium présentait un intérêt tout particulier, de même que l'acide gluconique associé à un sel de calcium, par exemple à du chlorure de calcium.

Il ressort également des exemples que, dans le cas où l'on utilise un gluconate en présence de calcium, le rapport molaire du calcium au gluconate est avantageusement compris entre 2 et 6, de préférence de l'ordre de 4.

Les proportions d'agents actifs dans les compositions cosmétiques de l'invention peuvent varier dans de larges gammes. Toutefois, il est avantageux d'utiliser entre 0,005 % et 5 % en poids, de préférence entre 0,05 % et 0,5 % d'agent actif par rapport au poids total de la composition cosmétique finale.

Avantageusement, ledit agent actif est utilisé dans la composition en association avec au moins une substance choisie dans le groupe constitué par les vitamines, en particulier les vitamines du groupe A (rétinol), C et D3 et leurs dérivés tels que les esters notamment les palmitates et propionates, les tocophérols, les xanthines, en particulier la caféine ou la théophylline, les rétinoïdes, en particulier la vitamine A acide, les extraits de *Centella asiatica*, les acides asiatiques, madécassiques et leurs dérivés glycosylés tels que l'asiaticoside ou le madécassoside, les extraits de *Siegesbeckia orientalis*, les extraits de *Commiphora mukul* et les extraits d'*Eriobotrya japonica*, les dérivés de silicium cosmétiquement acceptables tels que des polysiloxanes, des silanols et des silicones, les acides aminés et leurs sels notamment de magnésium ou de calcium, en particulier l'acide arspartique, l'arginine, la citrulline et la thréonine, les céramides, les glycocéramides, les dérivés de sphingosine, en particulier les céramides de type II et III, les phospholipides, la forskoline et ses dérivés, les extraits de *Coleus*, les extraits de *Tephrosia*, les inhibiteurs d'élastase en particulier l'acide ellagique, les peptides de soja, les inhibiteurs de collagénase en particulier les peptides et les extraits végétaux tels que les extraits de racine de *Coptidis*, les extraits de racine de *Scutellaria baicalensis* Georgi, les flavonoïdes tels que la wogonine, la baicaline et la baicaléine, les extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *Ginkgo biloba*, de *Mosla chinensis*, de *Salvia officinalis*, de *Cinnamomum cassia*, les extraits cathéchiques de *Camellia sinensis* et les extraits aqueux de coques et fèves de *Theobroma cacao*, les extraits de *Phellodendron amurense*, les anti-inflammatoires en particulier les inhibiteurs de phospholipase A2, les apaisants en particulier les extraits de réglisse, l'acide glycyrrhétinique, le

glycyrrhizinate d'ammonium, les agents hydratants en particulier les polyols, le propylène glycol, le butylène glycol, le glycérol, l'acide hyaluronique, les agents anti-vergetures, en particulier les extraits de Marron d'Inde et l'escine, les agents protégeant ou améliorant la microcirculation, en particulier les bioflavonoïdes de

5 Ginkgo biloba, l'isodon, les extraits d'Ami visnaga, la visnadine, la ruscogénine, les antiradicalaires en particulier les polyphénols tels que les OPC (Oligomères Procyanidoliques) et leurs dérivés, des extraits végétaux en particulier des extraits de Curcuma longa, les agents anti-séborrhéiques tels qu'un inhibiteur de 5-alpha-réductase, en particulier un extrait de Pygeum africanum, et les agents stimulant la

10 microcirculation sanguine, tels que la cépharanthine et le nicotinate de méthyle, les saponines de luzerne, les sojasapogénols, en particulier de type A et de type B, les agents stimulants la synthèse du collagène VII tels que les extraits de Bertholletia, l'acide ellagique, le D-xylose et des complexes d'oligo-éléments.

Avantageusement, ledit agent actif est utilisé dans la composition en

15 association avec au moins une substance choisie parmi les substances protégeant la peau des effets nocifs du soleil telles que les filtres solaires seuls ou en combinaison, notamment les filtres UV A et les filtres UV B, en particulier les oxydes de titane et les oxydes de zinc, l'oxybenzone, les cinnamates, en particulier l'octylméthoxycinnamate (commercialisé sous la marque Parsol MCX), le

20 butylméthoxydibenzoylméthane (commercialisé sous la marque Parsol 1789) et les filtres d'origine végétale, les substances limitant les dommages causés à l'ADN, en particulier celles limitant la formation de dimères de thymine tel que l'acide ascorbique et ses dérivés et/ou le Photonyl, et les substances contribuant à l'élimination des taches de vieillissement tels que les inhibiteurs de la synthèse de

25 mélanine ou de tyrosinase.

Selon une autre de ses caractéristiques essentielles, l'invention concerne une méthode de traitement cosmétique destinée à corriger une déficience de l'expression et/ou de la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau, consistant à appliquer sur les zones de la peau à traiter une

30 composition cosmétique contenant, à titre de principe actif, au moins un produit choisi parmi les acides alpha-hydroxylés cosmétiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>, les alpha-céto-acides cosmétiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> et le chlorure de manganèse.

Dans ce procédé cosmétique, on applique sur la partie de la peau à traiter une composition cosmétique contenant l'un des agents actifs tels que précédemment définis.

5 Cette méthode de traitement cosmétique permet notamment de corriger la déficience de la fixation à la surface des cellules de la peau de l'acide hyaluronique et/ou du collagène, en particulier du collagène I et/ou du collagène IV, et/ou de la fibronectine.

Cette méthode de traitement cosmétique permet notamment d'améliorer l'hydratation de l'épiderme, ou de traiter les peaux sensibles ou réactives.

10 L'invention concerne également une méthode de traitement cosmétique telle que définie précédemment, destinée à corriger les effets négatifs du vieillissement sur l'expression et/ou sur la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau. Ce point est particulièrement important puisqu'il a été démontré par les inventeurs de la présente invention que  
15 la capacité des kératinocytes à fixer l'acide hyaluronique diminuait considérablement au cours du vieillissement, traduisant ainsi une perte de la fonctionnalité du CD44.

Selon un autre de ses aspects, l'invention concerne également les utilisations dans le domaine thérapeutique de la découverte faite par les inventeurs  
20 de la présente invention.

Ainsi donc, l'invention vise également un procédé de traitement thérapeutique par application sur la peau d'une composition pharmaceutique à usage topique contenant, à titre de principe actif, au moins un agent actif destiné à  
25 augmenter l'expression et/ou à améliorer la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau.

Elle vise, plus particulièrement, le cas où les compositions pharmaceutiques contiennent à titre d'agent actif un agent actif choisi parmi les acides alpha-hydroxylés pharmaceutiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>, les alpha-céto-acides  
30 pharmaceutiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> et le chlorure de manganèse.

Dans ces différentes applications du domaine thérapeutique, les agents actifs seront bien entendu choisis parmi ceux qui sont pharmaceutiquement acceptables. Toutefois, toutes les remarques faites dans l'exposé précédent



concernant les acides alpha-hydroxylés ou les alpha-céto-acides, leurs sels et esters préférés, restent valables.

Les concentrations des produits actifs dans les compositions sont également choisies dans les mêmes gammes préférentielles que celles des produits actifs cosmétiques dans les compositions cosmétiques précédemment décrites.

Ainsi donc, selon un autre aspect, l'invention concerne l'utilisation d'au moins un produit choisi parmi les acides alpha hydroxylés pharmaceutiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en  $C_2$ - $C_{24}$ , de préférence en  $C_{14}$ - $C_{22}$ , les alpha-céto-acides pharmaceutiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en  $C_2$ - $C_{24}$ , de préférence en  $C_{14}$ - $C_{22}$ , et le chlorure de manganèse, pour la préparation d'une composition pharmaceutique à usage topique, destinée à traiter une déficience de l'expression et/ou de la fonctionnalité des récepteurs CD44.

Un des domaines particulièrement intéressant est celui de la prévention et/ou du traitement des phénomènes inflammatoires.

Les exemples qui suivent sont donnés à titre purement illustratifs de la présente invention.

#### Exemple 1

Protocole du test permettant de mettre en évidence par fluorescence la fixation de l'acide hyaluronique à la surface des kératinocytes

##### I - Mesure de la quantité d'acide hyaluronique fixé à la surface des kératinocytes

On réalise les étapes suivantes :

25

1 - Ensemencement des cellules:

15 000 kératinocytes humains sont ensemencés dans des puits de culture (plaques à 96 puits) dans un milieu K-SFM (Gibco).

2 - Obtention de la confluence des cultures :

30 Incubation des cultures pendant 72 h à 37°C sous atmosphère saturée en humidité, avec 5 % de  $CO_2$  avec un renouvellement du milieu de culture après 48 h.

### 3 - Fixation d'acide hyaluronique :

Incubation des cellules pendant 4 h à 4°C avec de l'acide hyaluronique lié de façon covalente à un fluorochrome, la fluorescamine (HA-FA), synthétisée au laboratoire selon la technique décrite dans « Preparation and properties of  
5 fluoresceine-labelled hyaluronate ; Carbohydrat Research. 1975. Vol. 44. Pp 251-257 », préparé dans du K-SFM contenant 0,2 % d'azide de sodium.

### 4 - Evaluation de l'activité des produits testés :

Les produits pour lesquels on veut évaluer l'action sur la quantité de HA-FA fixée par les kératinocytes sont ajoutés dans le milieu d'incubation au début de  
10 l'incubation. Des contrôles sont effectués en absence des produits à évaluer et en présence de leur excipient ayant servi à les solubiliser.

### 5 - Fixation non spécifique de HA-FA /

Afin de déterminer le marquage non spécifique, on utilise rigoureusement les mêmes conditions expérimentales que lors de l'étape 3 mais en ajoutant  
15 200 fois plus d'acide hyaluronique non marqué par un fluorochrome.

### 6 - Quantification de la fluorescence :

Après avoir retiré le milieu de fixation d'HA-FA, on effectue deux rinçages au PBS après quoi la fluorescence fixée sur les kératinocytes est mesurée à une  
20 longueur d'onde d'excitation  $\lambda_{ex} = 485 \text{ nm}$  et une longueur d'onde d'émission  $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$ .

### 7 - Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en unité de fluorescence (fluorescence spécifique), déduction faite de la fluorescence non spécifique (voir 5-).

### 8 - Normalisation :

25 Dans certains cas, en particulier lorsque l'on veut comparer deux souches de cellules différentes, par exemple provenant de donneurs d'âges différents, ou ayant reçu un traitement différent, il est nécessaire de normaliser en tenant compte du nombre de cellules présentes dans les puits de culture. Pour cela, on ramène les valeurs de fluorescence mesurées à la teneur en ADN cellulaire effectué selon la  
30 méthode du DAPI (voir III-)

## II - Mesure de l'expression du récepteur de l'acide hyaluronique (CD44) à la surface des kératinocytes

Les étapes 1 et 2 sont identiques aux étapes 1 et 2 du I.

3 - Fixation des cellules au paraformaldéhyde à 2 % dans du PBS contenant du calcium et du magnésium pendant 5 min à température ambiante.

4 - Saturation des sites de liaison anticorps antigène non spécifiques :

5 Après deux rinçages au PBS, les cellules sont incubées avec du milieu de saturation PBS avec calcium et magnésium additionné de 5 % v/v de sérum de veau et de 0,05 % p/v d'azide de sodium pendant 1 h à température ambiante.

5 - Marquage :

10 Ajout de l'anticorps monoclonal IgG1 anti CD44 humain, couplé à la R-phycoérythrine dilué dans le milieu de saturation (voir 4-) au 1/50<sup>ème</sup> pendant 1 h à température ambiante et à l'abri de la lumière.

6 - Un contrôle isotypique avec une IgG1 couplée à la R-phycoérythrine est réalisé dans les mêmes conditions expérimentales que pour le marquage. Les valeurs obtenues sont soustraites de celles du marquage.

7 - Quantification de la fluorescence :

15 Après 2 rinçages avec le milieu de saturation, la lecture de la fluorescence présente dans les puits est effectuée avec 50 µl de PBS à  $\lambda$  excitation = 544 nm et  $\lambda$  émission = 590 nm.

8 - Evaluation des produits à tester :

20 Les produits dont on veut évaluer l'activité sur l'expression du récepteur CD44 sont ajoutés dans le milieu de culture 24 h après l'ensemencement des cellules. Pour ce faire, le milieu d'ensemencement est retiré et remplacé par un milieu identique contenant la substance à tester. L'incubation se poursuit alors pendant 48 h. Des contrôles sont effectués en absence des produits à évaluer, et en présence de l'excipient ayant servi à les solubiliser. Toutes choses égales par  
25 ailleurs.

9 - Mesure de la fonctionnalité du récepteur CD44 :

30 Après traitement des cultures pendant 48 h avec les substances à évaluer (voir 8-), une mesure de la capacité des cellules à fixer l'acide hyaluronique est réalisée selon le protocole I-, en ajoutant à l'étape 3 de ce protocole, du CaCl<sub>2</sub> à la concentration de 20 mM.

10 - Normalisation :

Les valeurs ainsi obtenues sont normalisées en tenant compte de la quantité de matériel cellulaire présente dans les puits. Pour cela, une mesure de la teneur en ADN cellulaire est effectuée par la méthode au DAPI (voir protocole ci-dessous).

### III - Quantification de l'ADN cellulaire par le dihydrochlorure de 4'6'-diaminephénylindol (DAPI)

La quantification de l'ADN cellulaire peut s'effectuer directement sur les cultures après quantification de l'expression du CD44.

5      1 - Etape de perméabilisation :

Dans chaque puits, on ajoute 30  $\mu$ l de méthanol à -20°C pendant 1 min.

2 - Marquage au DAPI :

Après deux rinçages au PBS, on ajoute une solution de DAPI à 20  $\mu$ g/ml pendant 15 min. à température ambiante et à l'obscurité.

10     3 - Quantification de la fluorescence :

Après 2 rinçages avec du PBS, la lecture de la fluorescence présente dans les puits est effectuée avec 50  $\mu$ l de PBS à  $\lambda$  excitation = 355 nm et  $\lambda$  émission = 460 nm.

15     Exemple 2

Mise en évidence de l'effet du vieillissement sur la fonctionnalité du récepteur CD44 en ce qu'il fixe l'acide hyaluronique

Cette étude a été réalisée en utilisant le test dont le protocole (I-) est donné à l'exemple 1.

20      L'étude a été réalisée sur des cultures de kératinocytes humains normaux provenant de donneurs d'âges différents.

Les résultats sont donnés dans le tableau I ci-dessous.

TABLEAU I

Ages des donneurs en années	Fixation d'acide hyaluronique ( $\lambda_{em} = 538 \text{ nm}$ ) rapportée à la quantité d'ADN ( $\lambda_{em} = 460 \text{ nm}$ )	
	Moyenne	Ecart-type
18	257	13
20	505	42
33	378	52
44	75	21
50	77	2
67	48	7

- On observe une très forte diminution de la capacité des kératinocytes à fixer l'acide hyaluronique au cours du vieillissement traduisant une perte de la fonctionnalité du CD44.

### Exemple 3

- Effet de l'association du gluconate et du calcium sur la fixation de l'acide hyaluronique sur les kératinocytes

Les études qui suivent ont été réalisées selon le protocole I- de l'exemple 1.

- a) Dans une première expérience, on a comparé la fixation d'acide hyaluronique marqué par un fluorochrome sur des kératinocytes humains en culture en présence de  $\text{CaCl}_2$  et de gluconate de calcium à molarité égale.

Les résultats sont donnés dans le tableau II ci-dessous.

TABLEAU II

Concentrations en mM	Fluorescence mesurée (UF)			
	$\text{CaCl}_2$		Gluconate de calcium	
	Moyenne	écart type	Moyenne	écart type
5	30	9	310*	30
10	370	21	2 745*	125

\* Différences hautement significatives entre  $\text{CaCl}_2$  et gluconate de Calcium.

On observe qu'en présence de gluconate de calcium, la quantité de fluorescence mesurée est significativement beaucoup plus forte que pour le chlorure de calcium à molarité équivalente. Cela indique que des quantités beaucoup plus fortes d'acide hyaluronique se sont fixées sur les cultures de  
5 kératinocytes en présence de ce produit qu'en présence de chlorure de calcium.

b) Dans une deuxième expérience, on a comparé l'action de concentrations croissantes de  $\text{CaCl}_2$  en présence ou en absence de gluconate de sodium à 10 mM.

Les résultats figurent dans le tableau III ci-dessous.

10

TABLEAU III

Concentrations $\text{CaCl}_2$ en mM	Fluorescence mesurée (UF)			
	sans gluconate de Na		avec gluconate de Na (10 mM)	
	Moyenne	écart type	Moyenne	écart type
0	6	11	6	11
2,5	8	15	27	36
5	7	16	84*	41
10	447	43	2 186*	350

\* Différences hautement significatives entre  $\text{CaCl}_2$  seul et en présence de gluconate de sodium.

15 Ce résultat confirme l'effet positif du calcium sur la fixation d'acide hyaluronique. L'effet positif du calcium se manifeste à la concentration de 10 mM.

En présence de gluconate sous la forme de gluconate de sodium, la quantité d'acide hyaluronique fixée avec 10 mM de  $\text{CaCl}_2$  est plus forte. Par ailleurs, à la concentration de  $\text{CaCl}_2$  de 5 mM, sans effet sur cette fixation, l'ajout  
20 de gluconate de Na permet d'observer une fixation significative d'acide hyaluronique.

c) Dans une troisième expérience, on a fixé la concentration de calcium à 10 mM et fait varier la concentration de gluconate apporté sous forme de sel de sodium.

25

Les résultats sont consignés dans le tableau IV ci-dessous.

TABLEAU IV

Gluconate de Na Concentration en mM	Fluorescence mesurée (UF) en présence de 10 mM de $\text{CaCl}_2$	
	Moyenne	Ecart-type
0	447	43
2,5	5 241*	597
5	4 535*	616
10	2 186*	350

\* Différences hautement significatives entre  $\text{CaCl}_2$  seul et en présence de gluconate de sodium.

5 On voit ainsi clairement que le gluconate apporté sous forme de gluconate de sodium induit de manière dose-dépendante une potentialisation de l'effet du calcium et permet ainsi la fixation de quantité d'acide hyaluronique beaucoup plus importante qu'en présence de calcium uniquement. Cette expérience montre qu'il existe des rapports molaires Ca/Gluconate préférentiels proches de 4  
10 (10 mM/2,5 mM).

Cette dernière expérience est utile pour ajuster la quantité de gluconate à celle du calcium pour produire le maximum d'action.

On voit que dans des conditions relativement optimisées, le gluconate de sodium permet au moins d'augmenter les effets du calcium d'un facteur 12, ce qui  
15 est considérable.

Ces deux derniers éléments ont de l'importance dans la mesure où le gluconate de sodium peut potentialiser l'effet du calcium, présent en abondance dans l'épiderme, sur la fixation de l'acide hyaluronique à la surface des kératinocytes dans l'épiderme.

20 On voit donc que l'invention ne se limite pas seulement au gluconate de Ca mais concerne plus généralement le gluconate sous la forme de sel ou de complexe de calcium, de magnésium, de manganèse, de zinc ou de sodium ou de tout autre cation divalent ou monovalent.

25

Exemple 4

Effet du lactate de sodium sur l'expression du CD44 à la surface des kératinocytes humains en culture, et sur la fixation d'acide hyaluronique par les kératinocytes humains en culture

- 5 a) Expression du CD44 à la surface des kératinocytes humains en présence ou en absence de lactate de sodium

Cette étude a été réalisée en utilisant les tests dont les protocoles sont donnés à l'exemple 1.

L'étude a été réalisée sur des cultures de kératinocytes humains normaux.

- 10 Les résultats sont donnés dans le tableau V ci-dessous.

TABLEAU V

Lactate de sodium Concentrations en mM	Expression du CD44 à la surface des kératinocytes humains Marquage CD44 (UF) / ADN cellulaire (UF)	
	Moyenne	% d'augmentation
0	189 ± 28	
0,22	249 ± 31	32%

- 15 Dans cette expérience, on observe que les valeurs de fluorescence correspondant au marquage du CD44 des kératinocytes sont augmentées lorsque les cellules sont traitées pendant 48 h avec une concentration de lactate de sodium de 0,22 mM.

- 20 b) Fixation de l'acide hyaluronique à la surface des keratinocytes humains en présence ou en absence de lactate de sodium

Cette étude a été réalisée en utilisant les tests dont les protocoles sont donnés à l'exemple 1.

L'étude a été réalisée sur des cultures de kératinocytes humains normaux.

- 25 Les résultats sont donnés dans le tableau VI ci-dessous.



TABLEAU VI

Lactate de sodium Concentrations en mM	Fixation de l'acide hyaluronique a la surface des kératinocytes humains Fixation (UF) / ADN cellulaire (UF)	
	Moyenne	% d'augmentation
0	59 $\pm$ 8,5	
0,22	105 $\pm$ 24	78%

Dans cette expérience, on démontre que l'augmentation de l'expression du CD44 des kératinocytes à la concentration de 0,22 mM de lactate de sodium (voir tableau VI ci-dessus) s'accompagne d'une augmentation de la capacité des kératinocytes à lier l'acide hyaluronique.

On notera que l'activation de la fixation de l'acide hyaluronique est supérieure à l'augmentation de l'expression du récepteur, laissant penser que le lactate de sodium peut aussi avoir une action favorable sur la fonctionnalité du récepteur.

Remarque : afin de tenir compte d'un possible effet de la substance testée sur le nombre de cellules et par conséquent sur le nombre de récepteurs, les valeurs de fluorescence correspondant au marquage du CD44 ou à la fixation d'acide hyaluronique ont été normalisées par rapport à la quantité de matériel cellulaire représenté par les valeurs d'ADN présentes dans les cultures.

#### Exemple 5

##### Effet du chlorure de manganèse sur la fixation d'acide hyaluronique par les kératinocytes humains en culture

Dans cette expérience, on a comparé en appliquant le protocole donné à l'exemple 1 la fixation d'acide hyaluronique fluorescent sur des kératinocytes humains en culture en présence de CaCl<sub>2</sub> ou en présence de MnCl<sub>2</sub>   molarité égale.

Concentrations en mM	Fluorescence mesurée (UF)			
	CaCl <sub>2</sub>		MnCl <sub>2</sub>	
	Moyenne	Ecart-type	Moyenne	Ecart-type
5	37	26	1 593*	421
10	361	144	1 524*	397

\* Différences de fixation significatives entre CaCl<sub>2</sub> et gluconate de Ca.

On observe qu'en présence de MnCl<sub>2</sub>, la quantité de fluorescence mesurée est significativement beaucoup plus forte que pour le chlorure de calcium à molarité équivalente. Cela indique que des quantités beaucoup plus fortes d'acide hyaluronique se sont fixées sur les cultures de kératinocytes en présence de ce produit qu'en présence de chlorure de calcium.

#### 10 Exemples de formulations cosmétiques utilisant les propriétés des agents stimulant la fixation de l'acide hyaluronique sur les cellules cutanées

##### Exemple 6 : Emulsion hydratante et nourrissante anti-âge

	Gluconate de calcium .....	0,1 g
15	Palmitate de vitamine A .....	0,01 g
	Vitamine E phosphate.....	0,01 g
	Vitamine C magnésium phosphate.....	0,2 g
	Céramides de blé .....	0,2 g
	Protéines de blé.....	1 g
20	Filtre UVA-UVB .....	5 g
	Excipient avec conservateurs et parfums.....	qsp 100 g

25 Cette émulsion nourrissante améliore l'hydratation cutanée en particulier de l'épiderme, la finesse et le grain de la peau et atténue les rides. Elle est appliquée quotidiennement sur le visage.

##### Exemple 7 : Gel hydratant raffermissant et restructurant

Gluconate de calcium .....	0,2 g
----------------------------	-------

	Aspartate de magnésium.....	0,1 g
	Extrait titré de Centella asiatica.....	0,1 g
	Saponines de soja .....	0,05 g
	Vitamine C magnésium phosphate.....	0,1 g
5	Excipient avec conservateurs et parfums.....	qsp 100 g

Ce gel hydratant exerce un effet tenseur sur la peau et en améliore la souplesse et la fermeté. Elle est appliquée quotidiennement sur le visage, le cou, le buste.

10

Exemple 8 : Gel liposomal hydratant réparateur

	Lactate de sodium.....	0,15 g
	Lécithine de soja.....	2 g
15	Acétate de vitamine A .....	0,01 g
	Bêta ecdysone .....	0,1 g
	Alpha-tocophérol.....	0,01 g
	Excipient avec conservateurs et parfums.....	qsp 100 g

20

Ce gel liposomal est utilisé en application quotidienne, de préférence le soir, et sur le visage. Il améliore la souplesse de la peau et son hydratation et favorise sa régénération.

Exemple 9 : Lotion hydratante et tonifiante

25

	Gluconate de calcium .....	0,1 g
	Extrait de Panax Ginseng .....	0,2 g
	AMP cyclique.....	0,05 g
	Caféine.....	0,1 g
30	Excipient avec conservateurs et parfums.....	qsp 100 g

Cette lotion hydratante est utilisée en application quotidienne sur le visage, de préférence le matin, pour obtenir une peau plus belle et plus éclatante.

Exemple 10 : fluide hydratant et apaisant

	Gluconate de sodium .....	0,25 g
	Chlorure de magnésium.....	0,1 g
5	D-xylose .....	0,2 g
	Céramides de blé .....	0,2 g
	Extrait de réglisse .....	0,1 g
	Excipient avec conservateurs et parfums.....	qsp 100 g

- 10 Ce fluide est utilisé en application topique quotidienne sur le visage et le corps.

Exemple 11 : Mascara hydratant

15	Gluconate de calcium .....	0,3 g
	Acide hyaluronique.....	0,5 g
	D-xylose .....	0,3 g
	Pigments colorés.....	10 g
	Cires.....	30 g
20	Excipient.....	qsp 100 g

Exemple 12 : Patch apaisant après coup de soleil

	Gluconate de magnésium .....	0,5 g
25	Glycyrrhizinate d'ammonium .....	0,5 g
	Dextran sulfate.....	0,2 g
	Excipient pour patch.....	qsp 100 g

- 30 Exemple 13 : Crème antiseptique et apaisante pour les gerçures, petites plaies superficielles, et rougeurs d'irritations

X	Chlorure de manganèse .....	0,1 g
	Extrait de Phellodendron amurense.....	0,1 g
	Bêta ecdysone .....	0,1 g

2791260

20

Acide fusidique.....2 g  
Excipient..... qsp 100 g

REVENDICATIONS

1. Utilisation, dans une composition cosmétique, d'au moins un agent actif destiné à augmenter l'expression et/ou à améliorer la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau.
2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit agent actif améliore la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau en ce qu'ils fixent à la surface desdites cellules, l'acide hyaluronique et/ou le collagène, en particulier le collagène I et/ou le collagène IV, et/ou la fibronectine.
3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que ledit agent actif augmente l'expression et/ou améliore la fonctionnalité des récepteurs CD44 des kératinocytes et/ou des fibroblastes en ce qu'ils fixent l'acide hyaluronique à leur surface.
4. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que ledit agent actif augmente l'expression et/ou améliore la fonctionnalité des récepteurs CD44 des fibroblastes en ce qu'ils fixent à la surface desdits fibroblastes, le collagène, en particulier le collagène I et/ou le collagène IV, et/ou la fibronectine.
5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que ledit agent actif est choisi dans le groupe constitué par les acides alpha hydroxylés cosmétiquement acceptables, leurs sels et leurs esters, avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>, les alpha-céto-acides cosmétiquement acceptables, leurs sels et leurs esters, avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>.
6. Utilisation selon la revendication 5, caractérisée en ce que ledit acide alpha hydroxylé est choisi dans le groupe constitué par l'acide lactique, l'acide glycolique, l'acide gentisique, l'acide salicylique, l'acide gluconique et l'acide heptonique et ledit alpha-céto-acide est l'acide pyruvique.
7. Utilisation selon la revendication 5, caractérisée en ce que ledit sel de l'acide alpha hydroxylé ou de l'alpha-céto-acide cosmétiquement acceptable est choisi parmi le groupe constitué par les sels de sodium, de calcium, de magnésium, de zinc et de manganèse.
8. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que ledit agent actif comprend le gluconate de calcium ou un sel de l'acide gluconique associé à un sel de calcium, par exemple à du chlorure de calcium.

9. Utilisation selon la revendication 8, caractérisée en ce que le rapport molaire du calcium au gluconate est compris entre 2 et 6 et est de préférence de l'ordre de 4.
- X 5 10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que ledit agent actif est le chlorure de manganèse.
11. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que la proportion dudit agent actif dans la composition est comprise entre 0,005% et 5% en poids, de préférence entre 0,05% et 0,5%, par rapport au poids total de la composition cosmétique finale.
- 10 12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisée en ce que ledit agent actif est utilisé dans la composition en association avec au moins une substance choisie dans le groupe constitué par les vitamines, en particulier les vitamines du groupe A (rétinol), C et D3 et leurs dérivés tels que les esters notamment les palmitates et propionates, les tocophérols, les xanthines, en
- 15 particulier la caféine ou la théophylline, les rétinoïdes, en particulier la vitamine A acide, les extraits de *Centella asiatica*, les acides asiatiques, madécassiques et leurs dérivés glycosylés tels que l'asiaticoside ou le madécassoside, les extraits de *Siegesbeckia orientalis*, les extraits de *Commiphora mukul* et les extraits d'*Eriobotrya japonica*, les dérivés de silicium cosmétiquement acceptables tels que
- 20 des polysiloxanes, des silanols et des silicones, les acides aminés et leurs sels notamment de magnésium ou de calcium, en particulier l'acide arspartique, l'arginine, la citrulline et la thréonine, les céramides, les glycocéramides, les dérivés de sphingosine, en particulier les céramides de type II et III, les phospholipides, la forskoline et ses dérivés, les extraits de *Coleus*, les extraits de
- 25 *Tephrosia*, les inhibiteurs d'élastase en particulier l'acide ellagique, les peptides de soja, les inhibiteurs de collagénase en particulier les peptides et les extraits végétaux tels que les extraits de racine de *Coptidis*, les extraits de racine de *Scutellaria baicalensis* Georgi, les flavonoïdes tels que la wogonine, la baicaline et la baicaléine, les extraits hydro-éthanoliques de feuilles de *Ginkgo biloba*, de
- 30 *Mosla chinensis*, de *Salvia officinalis*, de *Cinnamomum cassia*, les extraits cathéchiques de *Camellia sinensis* et les extraits aqueux de coques de fèves de *Theobroma cacao*, les extraits de *Phellodendron amurense*, les anti-inflammatoires en particulier les inhibiteurs de phospholipase A2, les apaisants en particulier les extraits de réglisse, l'acide glycyrrhétinique, le glycyrrhizinate d'ammonium, les

- agents hydratants en particulier les polyols, le propylène glycol, le butylène glycol, le glycérol, l'acide hyaluronique, les agents anti-vergetures, en particulier les extraits de Marron d'Inde et l'escine, les agents protégeant ou améliorant la microcirculation, en particulier les bioflavonoïdes de Ginkgo biloba, l'isodon, les extraits d'Ami visnaga, la visnadine, la ruscogénine, les antiradicalaires en particulier les polyphénols tels que les OPC (Oligomères Procyanidoliques) et leurs dérivés, des extraits végétaux en particulier des extraits de Curcuma longa, les agents anti-séborrhéiques tels qu'un inhibiteur de 5-alpha-réductase, en particulier un extrait de Pygeum africanum, et les agents stimulant la microcirculation sanguine, tels que la cépharanthine et le nicotinate de méthyle, les saponines de luzerne, les sojasapogénols, en particulier de type A et de type B, les agents stimulants la synthèse du collagène VII tels que les extraits de Bertholletia, l'acide ellagique, le D-xylose et des complexes d'oligo-éléments.
13. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisée en ce que ledit agent actif est utilisé dans la composition en association avec au moins une substance choisie parmi les substances protégeant la peau des effets nocifs du soleil telles que les filtres solaires seuls ou en combinaison, notamment les filtres UV A et les filtres UV B, en particulier les oxydes de titane et les oxydes de zinc, l'oxybenzone, les cinnamates, en particulier l'octylméthoxycinnamate, le butylméthoxydibenzoylméthane et les filtres d'origine végétale, les substances limitant les dommages causés à l'ADN, en particulier celles limitant la formation de dimères de thymine tel que l'acide ascorbique et ses dérivés et/ou le Photonyl, et les substances contribuant à l'élimination des taches de vieillissement tels que les inhibiteurs de la synthèse de mélanine ou de tyrosinase.
14. Méthode de traitement cosmétique destinée à corriger une déficience de l'expression et/ou de la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau, consistant à appliquer sur les zones de la peau à traiter une composition cosmétique contenant, à titre de principe actif, au moins un produit choisi parmi les acides alpha hydroxylés cosmétiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>, les alpha-céto-acides cosmétiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> et le chlorure de manganèse, tel que défini dans l'une des revendications 5 à 11.



15. Méthode de traitement cosmétique selon la revendication 14, caractérisée en ce qu'elle est destinée à corriger la déficience de la fixation à la surface desdites cellules, de l'acide hyaluronique et/ou du collagène, en particulier du collagène I et/ou du collagène IV, et/ou de la fibronectine.
- 5 16. Méthode de traitement cosmétique selon l'une des revendications 14 ou 15, caractérisée en ce qu'elle est destinée à améliorer l'hydratation de l'épiderme.
17. Méthode selon l'une des revendications 14 à 16, caractérisée en ce qu'elle est destinée au traitement des peaux sensibles ou réactives.
18. Méthode selon l'une des revendications 14 à 16, caractérisée en ce qu'elle  
10 est destinée à corriger les effets négatifs du vieillissement sur l'expression et/ou sur la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau.
19. Utilisation d'au moins un produit choisi parmi les acides alpha hydroxylés pharmaceutiquement acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub>, les alpha-céto-acides pharmaceutiquement  
15 acceptables, leurs sels et leurs esters avec un alcool en C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub>, de préférence en C<sub>14</sub>-C<sub>22</sub> et le chlorure de manganèse, pour la préparation d'une composition pharmaceutique à usage topique, destinée à traiter une déficience de l'expression et/ou de la fonctionnalité des récepteurs CD44.
20. Utilisation selon la revendication 19, caractérisée en ce que ladite  
20 composition est destinée à prévenir et/ou traiter les phénomènes inflammatoires.

INSTITUT NATIONAL

de la

PR PRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la rechercheN° d'enregistrement  
nationalFA 573097  
FR 9903840

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	WO 98 17320 A (TURLEY EVA ANNE ; ASCULAI SAMUEL SIMON (CA); HYAL PHARMA CORP (CA)) 30 avril 1998 (1998-04-30) * page 1, ligne 20-32 * * page 2, ligne 9-14 * * revendications 1,16 *	1-4
X	EP 0 770 399 A (YU RUEY J ; SCOTT EUGENE J VAN (US)) 2 mai 1997 (1997-05-02)  * page 2, ligne 17 * * page 3, ligne 12,13 * * page 3, ligne 21,23,45 * * page 4, ligne 41-50 * * revendications 1,4,6,15,20,21 *	1-7, 11-16, 18,19
X	WO 96 19228 A (COSMEDERM TECHNOLOGIES ; HAHN GARY SCOTT (US); THUESON DAVID OREL ( )) 27 juin 1996 (1996-06-27) * page 1-6 * * page 8, ligne 10-17 * * page 16, ligne 7 - page 17, ligne 9 * * page 18, ligne 7-16 * * page 25, ligne 17-24 * * exemple 1 * * revendications 1,10-20,54,76-79,83 *	1-6,8,9, 11-17, 19,20
X	EP 0 756 866 A (OREAL) 5 février 1997 (1997-02-05) * le document en entier *	1-6, 11-20
X	D.F. WILLIAMS: "CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF THE COSMETICS AND TOILETRIES INDUSTRY" 1996, BLACKIE ACADEMIC & PROFESSIONAL XP002129103 * page 128-130 *	1-6, 14-20
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
3 février 2000		Sierra Gonzalez, M
<p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou schéma-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons</p> <p>Δ : membre de la même famille, document correspondant</p>		

2 S2  
1 S1  
S3 1 S2 NOT S1  
?t 3/6

3/6/1  
011869656  
WPI Acc No: 1998-286566/199825  
Title Terms: COSMETIC; DERMATOLOGY; EXTRACT; STIMULATING; PRODUCE; TYPE;  
COLLAGEN  
?s pn=fr 2912775  
S4 0 PN=FR 2912775  
?s pn=fr 2791260  
S5 1 PN=FR 2791260  
?t 5/7

5/7/1  
DIALOG(R)File 351:Derwent WPI  
(c) 2002 Thomson Derwent. All rts. reserv.

013456372  
WPI Acc No: 2000-628315/200060  
Use of alpha hydroxy acids, alpha keto acids or magnesium chloride in  
cosmetics to increase expression of CD44 membrane receptors.

Patent Assignee: PARFUMS DIOR SA CHRISTIAN (DIOR )

Inventor: BONTE F; DUMAS M

Number of Countries: 021 Number of Patents: 003

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
WO 200057836	A2	20001005	WO 2000FR764	A	20000327	200060 B
FR 2791260	A1	20000929	FR 993840	A	19990326	200060
EP 1165035	A2	20020102	EP 2000915224	A	20000327	200209
			WO 2000FR764	A	20000327	

Priority Applications (No Type Date): FR 993840 A 19990326

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

WO 200057836 A2 F 25 A61K-000/00

Designated States (National): JP US

Designated States (Regional): AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU  
MC NL PT SE

FR 2791260 A1 A61K-007/48

EP 1165035 A2 F A61K-007/48 Based on patent WO 200057836

Designated States (Regional): AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI  
LU MC NL PT SE

Abstract (Basic): WO 200057836 A2

NOVELTY - An agent (I) that increases the expression of CD44 membrane receptors of the skin and/or improves the fixation on the surface of skin cells of hyaluronic acid and/or collagen, especially collagen I and/or collagen IV and/or fibronectin, is new.

ACTIVITY - Cosmetic; dermatological; antiinflammatory. The expression of CD44 and the fixation of hyaluronic acid on the surface of human keratinocytes were measured in the presence and absence of sodium lactate. In the presence of 0.22 mM sodium lactate expression of CD44 increased by 32%, and fixation of hyaluronic acid increased by 78%.

MECHANISM OF ACTION - CD44 membrane receptor stimulants.

USE - The agents (I) improve epidermal hydration, are useful in treating sensitive or reactive skins, correct the negative effects of skin aging, and prevent or treat inflammatory phenomena.

pp; 25 DwgNo 0/0

Derwent Class: B05; D21

International Patent Class (Main): A61K-000/00; A61K-007/48

THIS PAGE BLANK (USPTO)

?map anpryy temp s5

1 Select Statement(s), 1 Search Term(s)  
Serial#TD192

1 SearchSaves, 1 Search Term(s)

?exs

Executing TD192

S6 1 AN=FR 993840

?s s6 not s5

1 S6

1 S5

S7 0 S6 NOT S5

?save temp

Temp SearchSave "TD193" stored

?b345

02jan03 13:57:21 User034901 Session D12221.2

Sub account: 016800-444

\$27.08 0.985 DialUnits File351

\$0.00 1 Type(s) in Format 6

\$9.34 2 Type(s) in Format 7

\$9.34 3 Types

\$36.42 Estimated cost File351

\$0.43 TELNET

\$36.85 Estimated cost this search

\$37.14 Estimated total session cost 1.057 DialUnits

File 345:Inpadoc/Fam.& Legal Stat 1968-2002/UD=200250  
(c) 2003 EPO

Set Items Description

--- -----

?exs

Executing TD193

>>>SET HILIGHT: use ON, OFF, or 1-5 characters

S1 1 PN=WO 9962481

1 AN=FR 9613585

1 AN=FR 986822

S2 1 AN=FR 9613585 + AN=FR 986822

1 S2

1 S1

S3 0 S2 NOT S1

S4 0 PN=FR 2912775

S5 1 PN=FR 2791260

S6 1 AN=FR 993840

1 S6

1 S5

S7 0 S6 NOT S5

?e pn=fr 2900000

Ref	Items	Index-term
E1	1	PN=FR 2897
E2	1	PN=FR 29
E3	0	*PN=FR 2900000
E4	1	PN=FR 29000401
E5	1	PN=FR 29007
E6	1	PN=FR 2903
E7	1	PN=FR 2905
E8	1	PN=FR 2909
E9	1	PN=FR 2910
E10	1	PN=FR 2911
E11	1	PN=FR 2912
E12	1	PN=FR 2913

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

E7 1 PN=FR 2854  
E8 2 PN=FR 2855  
E9 2 PN=FR 2856  
E10 1 PN=FR 2857  
E11 1 PN=FR 2858  
E12 1 PN=FR 2859

Enter P or PAGE for more

?s pn=fr 2612775

S1 1 PN=FR 2612775

?t 1/7

1/7/1

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI

(c) 2002 Thomson Derwent. All rts. reserv.

007691406

WPI Acc No: 1988-325338/ 198846

Compsn. for controlling degeneration of skin - contains vitamin-a and  
cpds. of sulphur, manganese and magnesium

Patent Assignee: THOREL J N (THOR-I)

Inventor: THOREL J N

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
FR 2612775	A	19880930	FR 87704155	A	19870325	198846 B

Priority Applications (No Type Date): FR 874155 A 19870325; FR 87704155 A  
19870325

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
FR 2612775	A		9		

Abstract (Basic): FR 2612775 A

Compsn. for preventing or treating degeneration of the skin  
comprises Vitamin A and physiologically acceptable cpds. of S, Mn and  
Mg.

Specifically the compsn. is based on ascorbic acid (0.1-2 wt.%) and  
bilberry (vaccinium myrtillus) extract (5-60 wt.%).

USE/ADVANTAGE - The compsn. is esp. used to control aging  
processes, by supplying/reequilibrating necessary vitamins, trace  
elements and other 'vital stimulants' Ascorbic acid is a potentiator of  
the plant extract components. Treatment with the compsn. results in  
regularisation of keratinisation and prodn. of sebum; catalyses  
cellular metabolism and protein synthesis, and stabilises cellular  
structures.

0/0

Derwent Class: D21; E15

International Patent Class (Additional): A61K-007/40; A61K-031/37;

A61K-033/04; A61K-035/78

?map anpryy temp

1 Select Statement(s), 2 Search Term(s)

Serial#TD195

1 SearchSaves, 2 Search Term(s)

?exs

Executing TD195

1 AN=FR 874155

1 AN=FR 87704155

S2 1 AN=FR 874155 + AN=FR 87704155

?s s2 not s1

1 S2

1 S1

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**





FR2791260



## No English title available.

Patent Number: ☐ FR2791260

Publication  
date: 2000-09-29

Inventor(s): BONTE FREDERIC;; DUMAS MARC

Applicant(s): DIOR CHRISTIAN PARFUMS (FR)

Requested  
Patent: ☐ WO0057836

Application  
Number: FR19990003840 19990326

Priority Number  
(s): FR19990003840 19990326

IPC  
Classification: A61K7/48

EC  
Classification: A61K7/48C4F3, A61K7/48C16, A61K8/19, A61K8/20, A61K8/27,  
A61K8/365, A61K8/60, A61K8/67C, A61K8/67H, A61K8/67L, A61K8/97,  
A61Q1/10, A61Q19/00, A61Q19/08

Equivalents: ☐ EP1165035 (WO0057836), A3

### Abstract

The invention relates to the uses in cosmetics or pharmaceuticals of at least one active agent for increasing the expression and/or functionality of CD44 membrane receptors of skin cells, enabling the fixation of hyaluronic acid and/or collagen, especially collagen I and/or collagen IV and/or fibronectin on the surface of said skin cells. Preferably, said active agents are alpha hydroxyl acids or alpha ceto acids or salts and esters of said acids or manganese chloride. The inventive cosmetic or pharmaceutical compositions improve fixation of hyaluronic acid and/or collagen, especially collagen I or collagen IV and/or fibronectin on the surface of skin cells and improve hydration of the dermis and epidermis and prevent or treat skin-ageing phenomena and inflammatory phenomena.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE  
Bureau international

## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>7</sup> :  A61K	A2	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/57836  (43) Date de publication internationale: 5 octobre 2000 (05.10.00)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR00/00764 (22) Date de dépôt international: 27 mars 2000 (27.03.00)  (30) Données relatives à la priorité: 99/03840                  26 mars 1999 (26.03.99)                  FR  (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): PARFUMS CHRISTIAN DIOR [FR/FR]; 33 Avenue Hoche, F-75008 Paris (FR).  (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): DUMAS, Marc [FR/FR]; 61 Résidence le Windsor, 47 Ter Avenue de la Mouillère - Apté 61, F-45100 Orléans (FR). BONTE, Frédéric [FR/FR]; 54 Rue Tudelle, F-45100 Orléans (FR).  (74) Mandataires: GIRAUD, Françoise etc.; Cabinet Beau de Loménie, 158, Rue de l'Université, F-75340 Cedex 07 Paris (FR).	(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  Publiée Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.	
(54) Title: COSMETIC OR DERMATOLOGICAL COMPOSITIONS CONTAINING AT LEAST ONE SUBSTANCE FOR INCREAS- ING THE FUNCTIONALITY AND/OR EXPRESSION OF CD44 MEMBRANE RECEPTORS OF SKIN CELLS  (54) Titre: COMPOSITIONS COSMETIQUES OU DERMATOLOGIQUES CONTENANT AU MOINS UNE SUBSTANCE DESTINEE A AUGMENTER LA FONCTIONNALITE ET/OU L'EXPRESSION DES RECEPTEURS MEMBRANAIRES CD44 DES CELLULES DE LA PEAU  (57) Abstract  The invention relates to the uses in cosmetics or pharmaceuticals of at least one active agent for increasing the expression and/or functionality of CD44 membrane receptors of skin cells, enabling the fixation of hyaluronic acid and/or collagen, especially collage I and/or collagen IV and/or fibronectin on the surface of said skin cells. Preferably, said active agents are alpha hydroxyl acids or alpha ceto acids or salts and esters of said acids or manganese chloride. The inventive cosmetic or pharmaceutical compositions improve fixation of hyaluronic acid and/or collagen, especially collagen I or collagen IV and/or fibronectin on the surface of skin cells and improve hydration of the dermis and epidermis and prevent or treat skin-ageing phenomena and inflammatory phenomena.  (57) Abrégé  L'invention concerne des utilisations dans le domaine cosmétique ou pharmaceutique d'au moins un agent actif destiné à augmenter l'expression et/ou la fonctionnalité des récepteurs membranaires CD44 des cellules de la peau, permettant d'améliorer la fixation à la surface desdites cellules de la peau de l'acide hyaluronique, et/ou du collagène, en particulier du collagène I et/ou du collagène IV, et/ou de la fibronectine. Ces agents actifs sont, de préférence, des acides alpha-hydroxylés ou des alpha-céto-acides ou des sels et des esters de ces acides ou le chlorure de manganèse. Les compositions cosmétiques ou pharmaceutiques de l'invention sont destinées à améliorer la fixation de l'acide hyaluronique et/ou du collagène, en particulier du collagène I ou du collagène IV, et/ou de la fibronectine à la surface des cellules de la peau et permettent notamment d'améliorer l'hydratation du derme et de l'épiderme, de prévenir ou traiter les phénomènes de vieillissement de la peau ainsi que les phénomènes inflammatoires.		

THIS PAGE BLANK (USPTO)